

TOKSISITAS GRANULA EKSTRAK BUAH JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia* L.) TERHADAP MORTALITAS BERUDU (*Phyrinoidis aspera*)

Renny Ria Fitriani^{1*}, Dwi Wahyuni², Kamalia Fikri³

¹Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan,
Universitas Jember

Abstract: Granules extract of clime fruit (*Citrus aurantifolia* L.) is a biolarvasida in eradicating *Aedes aegypti* mosquito larvae L. Granules extract of lime fruit (*Citrus aurantifolia* L.) can kill mosquito larvae because its content of limonoida, tannin, flavonoid, and volatile oil. The compound is lethal to the larvae which will enter the body of the larvae of the *Aedes aegypti* L. mosquito which disrupts the systems in its body. The purpose of this article is to determine the safety of lime fruit (*Citrus aurantifolia* L.) extract granules on non-target animals, namely tadpoles. Tadpole has the same habitat with mosquito larvae so it is done safety test of citrus fruit extract granule (*Citrus aurantifolia* L.). Tadpole is a larval phase in Amphibi that continues to experience morphological development in water. The initial phase of tadpoles growth is a phase of adaptation to its habitat. Individuals who can not adapt well will experience a faster death. The research method used is laboratory experimental. The analysis used is ANOVA. The independent variables in this study were the variety of granules extract concentration of citrus fruit (*Citrus aurantifolia* L.). Tadpole mortality became the dependent variable in this study. Tadpole mortality is characterized by tadpoles collapsing at the time of administration of granules. The results showed that the lime extract granules (*Citrus aurantifolia* L.) proved safe.

Keywords: Granules, Mortality, Tadpole

PENDAHULUAN

Granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) sebagai alternatif dalam memberantas larva nyamuk *Aedes aegypti* L.. Granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) dapat membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti* L. sebesar 100 ppm dalam waktu 105 menit (Wahyuni, 2013). Granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) dapat mematikan larva nyamuk karena kandungannya yaitu senyawa *limonoida*, *tannin*, *flavonoid*, dan minyak atsiri. Senyawa tersebut bersifat mematikan larva akan masuk ke dalam tubuh larva nyamuk *Aedes aegypti* L. yang mengganggu sistem-sistem dalam tubuhnya (Haq, 2010).

Dosis yang cukup dapat mengganggu metabolisme larva nyamuk *Aedes aegypti* L., sehingga dosis yang diberikan akan terakumulasi dalam tubuh larva nyamuk *Aedes aegypti* L. secara osmosi (Hababunga, 2103). Lingkungan hidup larva nyamuk *Aedes*

¹ E-mail: rennyriaf@gmail.com

P-ISSN: 1411-5433

E-ISSN: 2502-2768

© 2017 Saintifika; Jurusan PMIPA, FKIP, Universitas Jember

<http://jurnal.unej.ac.id/index.php/STF>

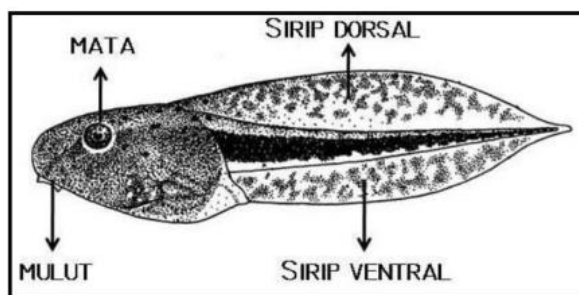
aegypti L. adalah di air, sehingga granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) perlu dilakukan uji keamanan terhadap hewan yang hidup di air, termasuk ikan dan katak. Berudu merupakan fase larva pada katak yang terus mengalami perkembangan morfologi di dalam air. Berudu merupakan indikator biologis di alam karena memiliki kepekaan yang terjadi pada habitatnya. Fungsi berudu Amphibi dalam habitat adalah sebagai bioindikator terhadap perubahan lingkungannya (Wati, 2014). Keberlangsungan hidup berudu dipengaruhi oleh faktor internal dan eksternal. Faktor internal meliputi gen dan hormon. Sedangkan faktor eksternal salahsatunya meliputi nutrisi, suhu, kelarutan oksigen, dan kekeruhan air (Effendi, 2003).

Tanaman jeruk nipis merupakan tanaman berbentuk perdu, rindang (rimbun), memiliki banyak percabangan dan memiliki tinggi berkisar 150-350 cm. akar tunggangnya berbentuk bulat dan berwarna putih kekuningan (Sarwono, 2001). Buah jeruk nipis memiliki diameter sekitar 3,5-5 cm dan tebal kulitnya 0,2-0,5 cm. Permukaan buah jeruk nipis licin dengan tipe buahnya berdaging tunggal sejati (*Hesperedium*). Buah jeruk nipis yang masih muda warnanya hijau, lalu seiring berkembangnya buah jeruk nipis maka warnanya hijau muda kekuningan. Kulit buah jeruk nipis ada 3 lapisan yaitu lapisan luar, tengah, dan dalam. Lapisan luar disebut dengan lapisan flavedo dengan struktur yang kaku dan banyak mengandung kelenjar minyak atsiri. Lapisan bagian tengah dinamakan albedo yang bersifat seperti spons. Albedo terdiri atas jaringan bunga karang yang berwarna putih. Lapisan bagian dalam membentuk beberapa ruangan karena bersekat-sekat. Strukturnya berair dan biji terdapat bebas diantara gelembung-gelembung (Samsiatun, 2012).

Ekstrak adalah sediaan pekat yang didapatkan dari ekstraksi aktif dari simplisia nabati menggunakan suatu pelarut yang sesuai kemudian sebagian atau semua pelarut diuapkan atau serbuk yang tersisa diperlukan sedemikian rupa sehingga dapat memenuhi persyaratan baku yang telah ditentukan (Taslimah, 2014). Granula merupakan gumpalan-gumpalan dari partikel yang lebih kecil, umumnya berbentuk tidak merata dan menjadi partikel tunggal yang lebih besar. Granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) sangat berpotensi untuk dikembangkan sebagai bioinsektisida.

Berudu adalah bentuk larva dari katak yang merupakan salah satu anggota dari classis Amphibia. Karena hidupnya di air maka berudu bernafas menggunakan insang.

Insang merupakan alat respiratori khusus untuk mengambil oksigen di dalam air. Berudu Anura memiliki tubuh berukuran pendek yaitu kira-kira 25-35% dari panjang total. Bentuk ekor memipih secara lateral dan terdiri dari sumbu utama *caudal muscular* dengan sirip ventral dan dorsal. Sirip ventral memanjang dari posterior hingga ujung ekor, sedangkan sirip dorsal memanjang dari tengah atau ujung badan hingga ujung ekor (Gosner, 1960). Tubuh berudu dicirikan dengan bentuk sedikit menggembung, tanpa kelopak mata, nares lebar dan mulut pada ujung tubuh. Posisi mata, nares dan mulut bervariasi antar spesies (Duellman, 1994). Berudu memiliki kulit yang tipis, berlapis-lapis, epidermis tanpa keratin, dan pada area tubuh yang berbeda terdapat korium yang tebal dengan jaringan ikat (Hofrichter, 1999).



Gambar 1. Berudu Amphibi (Sumber: Gosner dan Rosman, 1960)

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dikarenakan pada penelitian ini digunakan perlakuan untuk memanipulasi objek penelitian yang disertai dengan adanya kontrol.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada Ruang Zoologi laboratorium Pendidikan Biologi.

Identifikasi Variabel Penelitian

Pada penelitian ini variabel bebasnya adalah ragam konsentrasi granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) sebesar 50 ppm, 100 ppm, dan 200 ppm. Variabel terikatnya adalah mortalitas atau kematian berudu yang ditandai dengan tidak adanya gerakan sama sekali pada berudu dengan posisi tubuhnya mengapung atau tenggelam di dasar air. Selain hal tersebut perubahan warna tubuh berudu juga menjadi indikator kematian berudu. Variabel control pada penelitian ini meliputi berat dan

panjang berudu, medium air, waktu pengujian, tempat pengujian, suhu air, dan kelembapan udara.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian kali ini antara lain pipet tetes, *beaker glass*, gelas ukur, kawat penutup, wadah plastik, bak plastik, *thermometer*, *hygrometer*, *autoclave*, pengaduk, kain kasa, stopwatch, kamera, timbangan analitik, lemari es, kaca pembesar, karet. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah granula ekstrak jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.), air, alkohol 70%, bayam rebus, dan berudu.

Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian penelitian ini meliputi sterilisasi alat, pemijahan berudu dari habitat aslinya, pemilihan berudu berdasarkan gerakan, panjang, dan berat tubuh. Pemberian granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) dengan ragam konsentrasi sebesar 50 ppm, 100 ppm, dan 200 ppm, serta air 10 liter sebagai kontrol negatif. Pengamatan mortalitas berudu dilakukan dalam waktu 24 jam. Kematian berudu ditandai dengan gerakan yang tidak lagi aktif seperti sebelumnya atau *collaps*. Selain pengamatan tersebut pengukuran suhu dan kelembapan udara juga dilihat sebagai faktor pendukung penelitian ini.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan acak lengkap digunakan pada kondisi yang relatif homogen. Pada penelitian pengaruh granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) terhadap perkembangan morfologi berudu terdapat 4 perlakuan, dengan pengulangan sebanyak 6 kali.

Tabel 1. Rancangan uji penelitian pengaruh toksisitas granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) terhadap mortalitas berudu.

Pengulangan	Perlakuan			
	P1	P2	P3	P4
1	U1P1	U1P2	U1P3	U1P4
2	U2P1	U2P2	U2P3	U2P4
3	U3P1	U3P2	U3P3	U3P4
4	U4P1	U4P2	U4P3	U4P4
5	U5P1	U5P2	U5P3	U5P4
6	U6P1	U6P2	U6P3	U6P4

Keterangan :

P1 : Perlakuan negatif dengan air 10 liter

P2 : Perlakuan konsentrasi granula ekstrak buah jeruk nipis sebesar 50 ppm.

P3 : Perlakuan konsentrasi granula ekstrak buah jeruk nipis sebesar 100 ppm.

P4 : Perlakuan konsentrasi granula ekstrak buah jeruk nipis sebesar 200 ppm.

U : Perlakuan dengan menggunakan ulangan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji penelitian guna mengetahui pengaruh toksisitas granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) terhadap mortalitas berudu. Pada penelitian ini terdapat 4 perlakuan diantaranya adalah kontrol negatif yaitu air 10 liter (P1) dan ragam konsentrasi granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) yaitu 50 ppm (P2), 100 ppm (P3), dan 200 ppm (P4). Pengulangan pada penelitian ini dilakukan sebanyak 6 kali. Penelitian ini dilakukan dalam waktu 24 jam.

Hasil penelitian ditunjukkan dengan rerata mortalitas berudu dan analisis Anova menggunakan SPSS 17. Tabel mortalilitas berudu sebagai berikut.

Tabel 2. Toksisitas Granula Ekstrak Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* L.) terhadap Persentase Mortalitas Berudu.

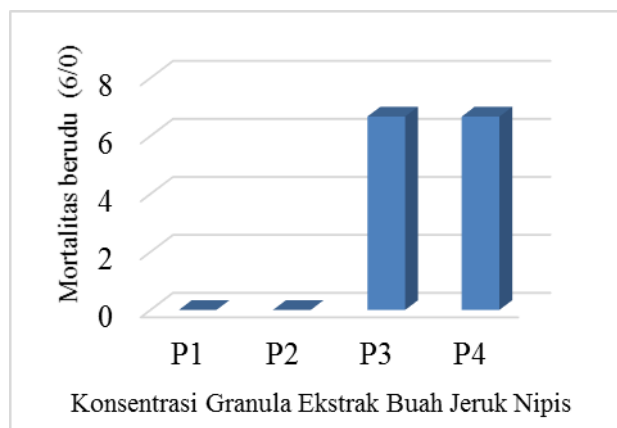
Perlakuan	Mortalitas Berudu (%)						Rerata±SD
	1	2	3	4	5	6	
P1	0	0	0	0	0	0	0,00±0
P2	0	0	0	0	0	0	0,00±0
P3	20	0	0	0	0	20	6,67±10,33
P4	40	0	0	0	0	0	6,67±16,33

Tabel tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) maka semakin tinggi mortalitas berudu. Pada perlakuan pertama dan kedua yaitu air 10 liter dan pemberian granula 50 ppm menunjukkan tidak adanya kematian berudu sehingga nilai rerata mortalitas menunjukkan angka 0.

Rerata pada perlakuan ketiga dan keempat pada pemberian granula 100 ppm dan 200 ppm menunjukkan angka yang sama yaitu sebesar 6,67. Hal ini disebabkan pada perlakuan ketiga dan keempat jumlah kematian berudu sama yaitu sebanyak 2 ekor. Namun yang membedakan adalah standar deviasinya.

Pada perlakuan ketiga dengan persentase mortalitas berudu 20% pada pengulangan ke-1 dan ke-6, standar deviasinya adalah 10,33. Sedangkan pada perlakuan keempat dengan persentase mortalitas 40% pada pengulangan ke-1, standar deviasinya adalah 16,33. Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa pemberian granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) terhadap mortalitas berudu tergolong

aman.). Granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) termasuk dalam kategori tidak aman apabila kematian mencapai angka persentase sebesar 50%.



Gambar 2. Histogram Toksisitas Granula Ekstrak Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* L.) terhadap Mortalitas Berudu pada Dalam Waktu 24 Jam.

Data hasil uji toksisitas granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) terhadap mortalitas berudu dilakukan analisis menggunakan uji Anova sebagai berikut.

Tabel 3. Hasil Uji Anova Mortalitas Berudu

	Jumlah Kuadrat	df	Rata-rata Kuadrat	F	Sig.
Antar kelompok	266,667	3	88,889	0,952	0,434
Dalam Kelompok	1866,667	20	93,333		
Total	2133,333	23			

Berdasarkan hasil uji ANOVA dapat diketahui bahwa taraf signifikan granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) dengan serial konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, dan 200 ppm terhadap mortalitas berudu adalah 0.434. Artinya adalah granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) tidak berpengaruh secara signifikan terhadap mortalitas berudu selama 24 jam. Hasil uji ANOVA ini menunjukkan bahwa granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) terbukti aman terhadap hewan non target yaitu berudu (*Phyrinoidis aspera*).



Gambar 3. Berudu *Phyrinoidis aspera*

Berudu yang mati dalam jumlah yang sedikit menunjukkan bahwa berudu lebih tahan daripada nyamuk *Aedes aegypti* L. terhadap bioinsektisida granula ekstrak buah

jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.). Hal ini dapat di analisis bahwa berudu termasuk ke dalam hewan yang memiliki tulang belakang (Avertebrata), sedangkan nyamuk termasuk ke dalam kelompok hewan insekta (Invertebrata). Struktur tubuh yang menyusun berudu dan nyamuk berbeda. Hal inilah yang membuat berudu lebih tahan terhadap pemberian granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) daripada nyamuk *Aedes aegypti* L.. Selain hal tersebut, berudu lebih dapat bertahan terhadap lingkungannya (Hoeve, 1989).

Sistem pencernaan larva nyamuk dan berudu berbeda, sehingga ketahanan dari senyawa toksik juga berbeda. Sistem pencernaan adalah salah satu organ yang diserang oleh racun yang terkandung dalam granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) seperti *limonoida* dan *tannin* (Nurvatisna, 2017).

Sistem pencernaan berudu terdiri dari mulut, dan usus panjang yang melingkar. Berudu bersifat herbivora yang artinya mengkonsumsi tumbuhan untuk mencukupi nutrisi dalam tubuhnya. Berudu merupakan herbivora. Herbivora pada ususnya memiliki kanal alimetric yang lebih panjang terhadap ukuran tubuhnya daripada karnivor. Herbivora memiliki usus yang lebih panjang daripada tubuhnya karena tumbuhan lebih sulit di cerna daripada daging karena mengandung dinding sel.

Pada kesimpulannya sistem pencernaan yang berbeda dari larva nyamuk dan berudu yang menjadi salah satu dasar bahwa berudu lebih terhadap pemberian granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.). Usus yang lebih panjang daripada larva nyamuk menyebabkan berudu dapat mengatasi adanya senyawa aktif yang terkandung di dalam granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.). Usus berudu disertai dengan sel-sel yang memiliki kemampuan absorpsi. Pada usus berudu terdapat sel-sel piala yang menghasilkan mucus. Usus memiliki epitel silindris sederhana yang berlendir menutupi sub-mukosa yang rapat. Lapisan mukosa pada saluran pencernaan ini memiliki peran penting pada proses pencernaan yaitu reabsorpsi dan proses metabolik (Asri, 2015).

Sistem pernapasan berudu dan larva nyamuk juga berbeda meskipun hidupnya sama-sama di air. Sistem pernapasan berudu terdiri dari insang dan kulit. Pada berudu terdapat 3 pasang insang luar. Posisi insang tersebut berada pada bagian kepala belakang, sisi kanan, dan sisi kiri. Selain menggunakan insang, berudu juga melakukan cabang pernapasan yaitu dengan kulit. Jika oksigen terlarut dalam air menurun maka

berudu akan mencoba melakukan percabangan pernapasan (Duellman, 1994). Saat oksigen terlarut dalam air berkurang karena penambahan granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.), maka berudu berusaha memenuhi kebutuhan oksigen dalam tubuhnya dengan cara menambah cabang pernapasan dengan cara respirasi kulit di permukaan air.

Sistem pernapasan larva nyamuk didapatkan dengan cara menjulurkan tabung pernapasan ke permukaan air untuk mengambil udara. Tabung pernapasan ini merupakan cabang-cabang halus serupa insang yang berada di dekat ekor larva nyamuk. Jika di tinjau dari insang, larva nyamuk lebih rentan terhadap senyawa aktif yang terkandung di dalam granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) daripada berudu. Kandungan senyawa aktif dalam granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) yang merupakan racun pernapasan adalah senyawa flavonoid dan minyak atsiri.

Berdasarkan penjelasan di atas dapat disimpulkan bahwa struktur lapisan insang antara berudu dan larva nyamuk yang jelas berbeda menjadi faktor lain bahwa berudu lebih tahan terhadap senyawa aktif yang terkandung dalam granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.). 3 lapisan insang pada berudu selain lebih dapat memfilter partikel-partikel juga menjadi kelebihan dalam pertahanan terhadap senyawa aktif. Selama berudu dapat memperoleh oksigen walaupun air lebih keruh karena penambahan granula, berudu tetap dapat bertahan. Kemungkinan apabila pemberian granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) pada air dalam jumlah lebih banyak dan menyebabkan kekeruhan, bisa jadi berudu tidak dapat bertahan karena kepekatan terlalu tinggi. Sehingga hal tersebut menyebabkan insang kekurangan kemampuannya dalam memfilter dan mendapatkan oksigen.

Aktivitas berudu dan larva nyamuk berbeda dalam proses perkembangannya menuju dewasa. Berdasarkan Duellman (1994) aktivitas berudu semakin lama, semakin berkurang aktivitasnya. Sehingga kebutuhan oksigennya semakin menurun. Sedangkan, aktivitas pada perkembangan larva nyamuk menjadi dewasa berlainan dengan aktivitas pada saat perkembangan berudu menjadi dewasa. Perkembangan larva nyamuk dari instar I sampai instar IV pergerakannya semakin aktif dan lincah (Sari, 2017), Sehingga oksigen yang dibutuhkan juga semakin bertambah. Pada saat air dimasukkan granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) yang menyebabkan air menjadi keruh,

maka kandungan oksigen pada air berkurang. Kandungan oksigen yang berkurang di dalam air menyebabkan terganggunya sistem respirasi larva nyamuk yang kekurangan oksigen. Namun, pada tubuh berudu masih bisa mentolerir keadaan tersebut. Hal inilah yang membuat berudu lebih tahan daripada larva nyamuk terhadap pemberian granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.).

Setiap hewan air memiliki suatu alat pada tubuhnya yang berfungsi sebagai pengatur pergantian udara. Berudu dan larva nyamuk sama-sama memiliki spirakel. Spirakel merupakan lubang yang berfungsi mengeluarkan air dari ruang *buchopryngeal* setelah di pompa masuk ke mulut melalui insang (Rahman, 2012). Bila sistem pernapasan terganggu oleh senyawa aktif yang terdapat pada granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) maka secara otomatis akan juga mengganggu kerja spirakel. Senyawa *flavonoid* dan minyak atsiri yang masuk ke dalam tubuh larva menyebabkan berkurangnya kemampuan larva untuk menutup spirakelnya pada saat menyelam yang kemudian di tandai dengan *collaps* dan akhirnya mati. Namun, pada berudu saat pemberian ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) ke dalam 10 liter air, sebagian besar tidak menandakan bahwa berudu tersebut *collaps*.

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan pada penelitian kali ini adalah kematian beberapa berudu memiliki perubahan aktivitas dan warna tubuh. Aktivitas berenang berudu yang masih sehat adalah dicirikan dengan gerakan naik-turun berudu dari permukaan air ke dasar air. Berudu menunjukkan perubahan warna tubuh menjadi putih pucat yang sebelumnya berwarna hitam kecoklatan. berudu yang mati juga tampak lembek dan bila diangkat dari air struktur tubuhnya kisut.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian mengenai pengaruh toksisitas granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) terhadap mortalitas berudu maka dapat di simpulkan bahwa pengaruh toksisitas granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) terbukti aman terhadap mortalitas berudu yang dibuktikan pada uji Anova dengan taraf signifikan sebesar 0,434.

SARAN DAN/ATAU UCAPAN TERIMA KASIH

- a. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh toksisitas granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) terhadap mortalitas berudu dalam waktu lebih dari 24 jam.
- b. Perlu dilakukan mengenai kualitas air setelah penambahan granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) terhadap suhu, pH, dan kelarutan oksigen.
- c. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) terhadap spesies berudu yang berbeda.
- d. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pengaruh toksik granula ekstrak buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) terhadap berudu sebagai racun kontak (*contact poison*), racun perut (*stomach poison*), dan racun pernapasan (*fumigants*).

DAFTAR PUSTAKA

- Asri, A. (2015). Gambaran Histopatologi Usus Ikan Dui Dui (*Dermogenys megarrhamphus*) di Danau Matano Luwu Timur Sulawesi Selatan yang Tercemar Logam Berat Nikel (Ni) dan Besi (Fe). *Skripsi*. Makasar : Universitas Hasanuddin.
- Duellman, W., & Trueb, L. (1994). *Biology of Amphibians*. New York: McGraw-Hill.
- Effendi, H. (2003). *Telaah Kualitas Air*. Yogyakarta: KANISIUS.
- Gosner, L., & Rossman, D. (1960). Eggs and larval development of the tree frogs *Hyla crucifer* and *Hyla ocularis*. *Herpetologica* 16(4): 225-232.
- Hababunga, E. Z., Riwu, Y., & Landy, S. (2013). Pengaruh Ekstrak Daun Jeruk Nipis Terhadap Kematian Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. *Jurnal Penelitian Kesmas*.
- Haq, G., Permanasari, A., & Solihin, H. (2010). Efektivitas Penggunaan Sari Buah Jeruk Nipis Terhadap Ketahanan Nasi. *Jurnal Sains dan Teknologi Kimia*. Vol. 1(1): 2087-7412.
- Hoeve, V. (1989). *Ensiklopedia Indonesia Seri Fauna Reptilia dan Amfibia*. Jakarta: P.T. Intermasa.
- Hofrichter, R. (1999). *The Encyclopedia of Amphibian*. Canada: Key Porter Books Limited.
- Nurvatisna, S. (2017). Perbedaan Toksisitas Ekstrak dan Granula Ekstrak Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L. *skripsi*. Jember: Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.
- Rahman, L. (2012). Deskripsi Morfologi, Identifikasi Molekuler dan Posisi Filogeni Berudu di Pulau Jawa berdasarkan Gen 12S rRNA dan 16S rRNA. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Samsiatun. (2012). *Deskripsi citrus aurantifolia*. [http://www.syamsiatun24.com/2012/10/17. \[24 November 2017\]](http://www.syamsiatun24.com/2012/10/17/[24%20November%202017]).

- Sari, M. (2017). Pertahanan dan Ketahanan Hidup Larva *Aedes aegypti* pada beberapa Media Air yang Berbeda. *Skripsi*. Lampung: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
- Sarwono, B. (2001). *Khasiat & Manfaat Jeruk Nipis*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Taslimah. (2014). Uji Efikasi Ekstrak Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) sebagai Bioinsektisida dalam Upaya Integrated Vector Management terhadap *Aedes aegypti*. *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah.
- Wahyuni, D. (2013). *Granulasi Senyawa Toksin untuk memberantas larva nyamuk Aedes aegypti*. Abstrak dan executive summary. Fakultas dan Ilmu Pendidikan Unej.
- Wati, M., & Yosmed, H. (2014). Komposisi Makanan (Diet) Dua Spesies Kodok *Bufo melanostictus*, Schneider (1799) Dan *Bufo asper*, Gravenhorst (1829) Di Daratan Tinggi dan Dataran Rendah Sumatera Barat. STKIP PGRI Sumatera Barat Program Studi Pendidikan Biologi. *Jurnal*. Vol. 6(2): 152-160.